

PC/EP 0 3 7 1 2 5 1 5
BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Rec'd PCI/PTO

19 MAY 2005

REC'D 08 JAN 2004

WIPO PCT

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

**CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT**

Aktenzeichen: 102 52 390.8
Anmeldetag: 12. November 2002
Anmelder/Inhaber: INFAI Institut für biomedizinische Analytik und
NMR Imaging GmbH, Bochum/DE
Bezeichnung: Verfahren zur Bestimmung der Funktionsfähigkeit
der Bauchspeicheldrüse
IPC: A 61 B 5/083

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 27. November 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
In Auftrag

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

BEST AVAILABLE COPY

Verfahren zur Bestimmung der Funktionsfähigkeit der Bauchspeicheldrüse

5 Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Bestimmung der Funktionsfähigkeit der Bauchspeicheldrüse, nämlich milder und mittlerer Formen der exokrinen Pankreaseinsuffizienz (EPI).

Exokrine Pankreaseinsuffizienz ist eine Verminderung der Abgabe von Enzymen aus dem Pankreas, insbesondere von Amylase, Lipase und Chymotrypsin.

10 Der bisherige sogenannte "Goldstandard" der Bestimmung von EPI besteht darin, dass über einen Zeitraum von zwei Stunden Sekretin und in der zweiten Stunde zusätzlich Caerulein intravenös infundiert wird und dabei über eine Duodinalsonde das Duodinalsekret abgesaugt und analysiert wird. Diese Bestimmungsmethode ist aufwendig, teuer, für den Patienten sehr unangenehm und obendrein störanfällig und deshalb mit einer erheblichen Fehlerquote behaftet.

15 Ein einfacherer, aber ebenfalls nicht sehr genauer Test besteht in der Bestimmung der Elastase im Stuhl.

20 Ein Pankreasfunktionstest, bei dem vor allem die Amylase bestimmt wird, ist in der DE-C-44 26 204 beschrieben. Hierbei wird natürliche Maisstärke appliziert und nach Metabolisierung als ^{13}C -angereichertes Kohlendioxid über die Atemluft ausgeschieden und analysiert. Der Test beruht darauf, dass Maisstärke von Natur aus mit ^{13}C -Atomen angereichert ist.

25 Ein Nachteil des Testes besteht darin, dass hiermit nur schwere Formen der exokrinen Pankreaseinsuffizienz bestimmt werden können. Dies liegt unter anderem daran, dass die Bauchspeicheldrüse nicht die alleinige Quelle von Amylase ist und der Test daher durch Amylase im Speichel- und Magensekret gestört wird. Vergleiche Löser et al., Z Gastroenterol 1997; 35:187-194

Weitere Untersuchungen der Funktionsfähigkeit der Bauchspeicheldrüse sind

entwickelt worden mit ^{14}C - und ^{13}C -angereicherten Substanzen, wobei die ^{13}C -Substanz bevorzugt werden, da sie den Patienten nicht mit dem radioaktiven ^{14}C -Isotop belasten. Als ^{13}C -angereicherte Testsubstanzen sind vor allem Cholesterolester und Triglyceride untersucht worden, wobei insbesondere das gemischte Triglycerid Glyceryl-1,3-dioctadecanoat-2-octanoat-1- ^{13}C (auch 1,3-Distearyl,2(carboxyl- ^{13}C)octanoyl-glycerol genannt) untersucht wurde, da die pankreatische Lipase zunächst die beiden Stearyl-Gruppen hydrolysiert und erst dann die kürzere ^{13}C -Octanoyl-Gruppe der Metabolisierung zugeführt wird.

Vergleiche der Untersuchungen mit dem "Goldstandard" und anderen Methoden haben ergeben, dass auch diese Methode nur geeignet ist, schwere Formen bis zu einem gewissen Grade mittlere Formen der pankreatischen Insuffizienz zu diagnostizieren. Bei milden Formen der exokrinen Pankreaseinsuffizienz versagt diese Methode; vgl. Löser et al., Scand. J Gastroenterol 1998; 33:327-334.

Es besteht somit noch immer das Bedürfnis nach einem einfacheren auch für den Patienten angenehmeren Bestimmungsverfahren der Funktionsfähigkeit der Bauchspeicheldrüse, nämlich der milden und mittleren Form der exokrinen Pankreaseinsuffizienz. Die Einstufung erfolgt wie folgt:

Leichte Pankreaseinsuffizienz:

Verminderung des Bikarbonats um $< 25\%$ oder

Verminderung des Enzyms um $< 25\%$ oder

Verminderung von zwei Enzymen um 25% oder

Verminderung eines Enzyms und Bikarbonats um $< 25\%$

Mittlere Pankreaseinsuffizienz:

Verminderung von mehr als zwei Enzymen und/oder Bikarbonats um $25 - 75\%$

Schwere Pankreaseinsuffizienz:

Reduktion aller Enzyme und/oder Bikarbonatsekretion um > 75%
(Lankisch et al., Dig.Dis.Sci. 1983, 28: 490-493)

Alle Berechnungen sind auf die unteren Grenzwerte (Mittelwert -2s) eines Normalkollektives bezogen.

5 Es wurde jetzt gefunden, dass dies dadurch möglich ist, dass vor und nach intravenöser Applikation von Sekretin und vor und nach oraler Applikation des gemischten Triglycerids Glyceryl-1,3-dioctadecanoat-2-octanoat-1- ^{13}C der Anstieg von $^{13}\text{CO}_2$ in der ausgeatmeten Atemluft bestimmt wird.

10 Bevorzugt wird IRMS eingesetzt. IRMS (Isotopic Ratio Mass Spectrometry) ist inzwischen die empfindlichste und beste Methode zur Bestimmung von $^{13}\text{CO}_2$ in der ausgeatmeten Atemluft.

Eine alternative Möglichkeit ist die Messung mittels NDIR (Non-Dispersive Infrared Spectroscopy)

15 Während nach einem Verfahren des Standes der Technik wie z.B. im oben genannten Löser et al. (1998) beschrieben lediglich das ^{13}C angereicherte Triglycerid verabreicht wird und anschließend der Anteil an $^{13}\text{CO}_2$ in der Atemluft gemessen wird, ist das erfindungsgemäße Verfahren dadurch gekennzeichnet, dass die Messung unter dem Einfluss einer vorherigen Sekretinapplikation erfolgt.

20 Dabei zeigt eine verringerte Metabolisierungsgeschwindigkeit bei der Freisetzung von $^{13}\text{CO}_2$ gegenüber gesunden Probanden einen Mangel an Pankreasenzymen und erlaubt damit eine zuverlässige Diagnose.

Beim erfindungsgemäßen Verfahren wird vor Beginn des Tests eine Atemprobe entnommen und dann werden weitere Proben in Zeitintervallen von beispielsweise 15, 20 oder 30 Minuten genommen. Üblicherweise erfolgt die Messung für
25 einem Zeitraum von zwei bis fünf Stunden.

Bevorzugt wird zunächst mit der Applikation des Sekretins begonnen, während der Applikation oder direkt nach Ende der Applikation wird dann das $^{13}\text{CO}_2$ -angereicherte gemischte Triglycerid verabreicht.

5 Die ausgeatmete Atemluft kann in Probencontainer aufbewahrt werden und nach Abschluss des Tests gemessen werden. Dabei ist auch ein Transport der Atemluftbehälter möglich.

10 Im Gegensatz zum "Goldstandard", bei welchem Sekretin und anschließend simultan Caerulin im Laufe von zwei Stunden infundiert werden müssen, wird beim erfindungsgemäßen Verfahren nur Sekretin appliziert und dies innerhalb von nur wenigen Minuten, bevorzugt 15 bis 45 Minuten. Die orale Applikation des gemischten Triglycerids Glyceryl-1,3-dioctadecanoat-2-octanoat-1- ^{13}C erfolgt auch beim erfindungsgemäßen Verfahren mit Hilfe einer standardisierten Testmahlzeit. Anstelle der bisher verwendeten Testmahlzeit aus 200 mg gemischten Triglycerids homogenisiert mit 10 g Schokoladencreme in einem 60°C warmen Wasserbad, und Auftragen nach dem Abkühlen auf ein Stück Toast mit 15 g Butter, kann dieses gemischte Triglycerid auch einfacher appliziert werden, indem man 200 mg gemischtes Triglycerid beispielsweise mit 15 g Maisstärke, 3 g Kakaopulver und 15 g Butter in 20 ml warmer Milch, um eine homogene Mischung zu erhalten, verrührt und dann auf eine Scheibe Toast streicht. Entscheidend ist nicht die Menge an Fett und Öl, sofern dass das gemischte Triglycerid mit den übrigen Komponenten leicht homogen vermischt und auf eine Scheibe Toast aufgetragen werden kann. Prinzipiell besteht auch die Möglichkeit, die 200 mg des gemischten Triglycerids in fertig abgepackte Portionen mit stabilen anderen, ausreichend fetthaltigen Komponenten zur Verfügung zu stellen, 25 die dann nur noch auf die Scheibe Toast gestrichen werden müssen.

Beim Vergleich der Testergebnisse des erfindungsgemäßen Verfahrens mit Testergebnissen des "Goldstandards" hat sich zunächst gezeigt, dass die Übereinstimmung zwar ausreichend ist, jedoch noch immer nicht voll befriedigt. Weitere Untersuchungen haben dann ergeben, dass die Reproduzierbarkeit des erfin-

5 dungsgemäßen Verfahrens sehr hoch ist und die Testergebnisse somit sehr viel enger beieinander liegen als der Vergleich mit dem "Goldstandard" erwarten lies. Bei der Überprüfung dieses erstaunlichen Ergebnisses wurde festgestellt, dass der "Goldstandard" offensichtlich wegen seiner Aufwendigkeit und Unzumutbarkeit für den Patienten nie auf Reproduzierbarkeit untersucht wurde und daher die Abweichungen von den Ergebnissen des erfindungsgemäßen Verfahrens nicht auf das erfindungsgemäße Verfahren, sondern auf Fehlerquellen beim "Goldstandard" zurückzuführen sind (vgl. Exokrine Pankreaseinsuffizienz 2001, Uni-Med Verlag AG, Bremen, Löhr J.-M. und Schneider H.T.).

10 Das erfindungsgemäße Verfahren ist somit in vieler Hinsicht dem "Goldstandard" überlegen: es wird auf das Legen der Duodinalsonde verzichtet, was für die Patienten außerordentlich unangenehm ist. Es wird auf die zweistündige Infundierung von Sekretin und Caerulein verzichtet. Stattdessen erfolgt nur eine intravenöse Applikation innerhalb von ca. 30 Minuten und nur von Sekretin. Da
15 es Patienten gibt, die zwar Sekretin vertragen aber nicht Caerulein, gibt es wesentlich weniger Untersuchungsabbrüche wegen Unverträglichkeit.

Die Kosten für den Test liegen bei ca. einem Zehntel der Kosten des "Goldstandards". Es ist erstmals möglich, auch mildere Formen der exokrinen Pankreaseinsuffizienz zu bestimmen und Patienten mit dieser Diagnose zu therapieren. Auch Formen der mittleren exokrinen Pankreaseinsuffizienz sind oft noch heilbar oder zumindest stabilisierbar. Formen der schweren pankreatischen Insuffizienz sind im allgemeinen nicht mehr therapierbar, sondern nur noch bezüglich der Symptome behandelbar. Von besonderer Bedeutung ist die rechtzeitige Erkennung der milden und mittleren Formen der pankreatischen Insuffizienz beim Kindern, zumal bei Kindern die Therapierbarkeit besser und leichter
25 ist als bei Erwachsenen.

Somit eignet sich dieses einfache Verfahren auch als Vorlaufkontrolle einer Enzymsubstitutionstherapie.

Beispiel

¹³C-Atemtest mit Stimulation von Sekretin

5 Vor Anwendung des ¹³C-Mixed-Triglycerid-Atemtests sollte der Patient für 6 Stunden (vorzugsweise über Nacht) gefastet haben. Der Test sollte in Ruhelage (sitzend oder liegend) durchgeführt werden.

Der Test beginnt mit Abnahme der ersten Nullwert-Atemprobe ("Nullwert"). Dazu bläst der Patient mit Hilfe eines Strohhalms in den mit "Nullwert" beschrifteten Probengefäße. Danach wird dem Patienten 0,5 U Sekretin/kg über 30 min iv appliziert.

10 Der Patient nimmt nun innerhalb von 10 Minuten die zubereitete Testmahlzeit zu sich.

15 Während der nächsten vier Stunden nach Beenden der Testmahlzeit werden zu den im Protokoll festgelegten Zeitabschnitten Atemproben auf die oben beschriebenen Weise in die jeweils eindeutig gekennzeichneten Probengefäße abgegeben.

Probenentnahme:

00 min	Sekretin iv	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min	140 min	160 min	180 min	200 min	220 min	240 min
-----------	----------------	-----------	-----------	-----------	-----------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------	------------

Figur 1 zeigt die Ergebnisse der ¹³CO₂-Atemluftwerte für einen gesunden Probanden (x) und einen Probanden mit leichter EPI.(♦)

20 Figur 2 zeigt die kumulativen ¹³CO₂ -Atemluftwerte für einen gesunden Probanden (x) und einen Probanden mit leichter EPI. (♦)

Patentansprüche

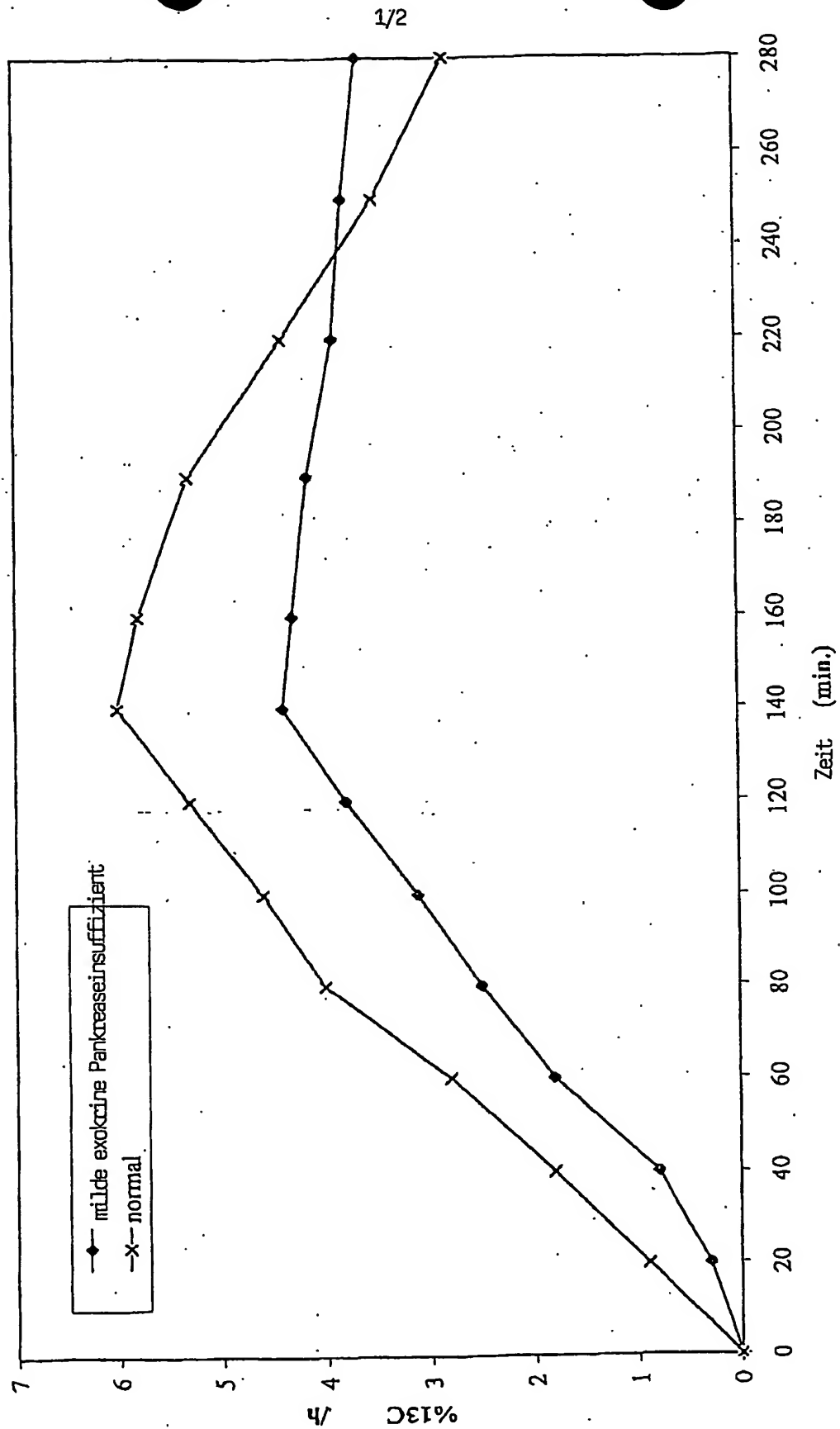
1. Verfahren zur Bestimmung der Funktionsfähigkeit der Bauchspeicheldrüse, nämlich milder und mittlerer Form der exokrinen Pankreaseinsuffizienz, dadurch gekennzeichnet, dass vor und nach intravenöser Applikation von Sekretin und vor und nach oraler Applikation des gemischten Triglycerids Glyceryl-1,3-diöctadecanoat-2-octanoat-1- ^{13}C der Anstieg von $^{13}\text{CO}_2$ in der ausgeatmeten Atemluft bestimmt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, dass die Bestimmung von $^{13}\text{CO}_2$ mittels IRMS oder NDIR erfolgt.
3. Verfahren gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass innerhalb von ca. 15 - 30 Minuten 0,5 U Sekretin/Kg Körpergewicht intravenös appliziert wird.
4. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass 200 mg des gemischten Triglycerids mit einer Testmahlzeit appliziert wird.
5. Testkit enthaltend
 - Testmahlzeit aus Maisstärke und Kakaopulver
 - Glyceryl-1,3-diöctadecanoat-2-octanoat-1- ^{13}C
 - Probenbehälter
 - Gebrauchsinformation.

Zusammenfassung

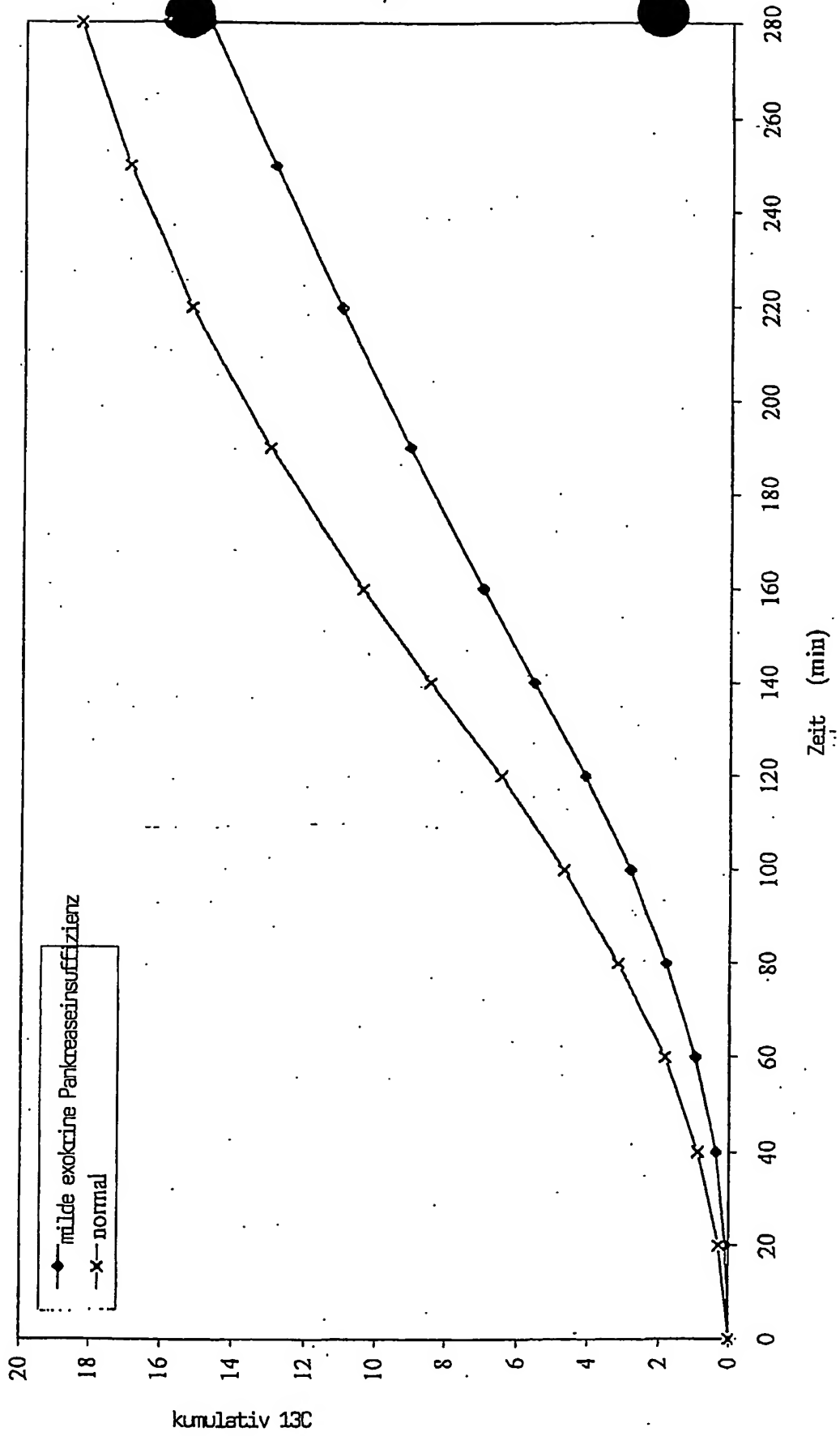
Das Verfahren zur Bestimmung der Funktionsfähigkeit der Bauchspeicheldrüse, nämlich milder und mittlerer Form der exokrinen Pankreaseinsuffizienz besteht darin, dass vor und nach intravenöser Applikation von Sekretin und vor und
5 nach oraler Applikation des gemischten Triglycerids Glyceryl-1,3-dioctadecanoat-2-octanoat-1-¹³C der Anstieg von ¹³CO₂ in der ausgeatmeten Atemluft mittels IRMS bestimmt wird.

Figur 1

Pancreo-Lip



Pancreo-Lip



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.